

N009

**ENHANCEMENT OF SONIC HEDGEHOG-INDUCED CARDIAC FUNCTIONAL RECOVERY IS AUGMENTED BY CXCR4 ANTAGONIST VIA MMP-9-DEPENDENT PATHWAY AFTER MYOCARDIAL INFARCTION**J. RONCALLI <sup>2</sup>, M.-A. RENAULT <sup>3</sup>, J. TONGERS <sup>1</sup>, S. MISENER <sup>1</sup>, T. THORNE <sup>1</sup>, C. KAMIDE <sup>1</sup>, K. JUJO <sup>1</sup>, J. TANAKA <sup>1</sup>, M. II <sup>1</sup>, K. KLYACHKO <sup>1</sup>, D.-W. LOSORDO <sup>1</sup><sup>1</sup> *Feinberg Cardiovascular Research Institute, Northwestern University, Chicago, USA*<sup>2</sup> *Fédération de Cardiologie, Rangueil University Hospital, Toulouse, France*<sup>3</sup> *Inserm U828, Université Bordeaux 2, Bordeaux, France*

**Background** — We have shown that the Sonic Hedgehog (Shh) embryonic signalling pathway can be reactivated in myocardial infarction (MI) in adults inducing expression of pro-angiogenic factors. We hypothesized that combining Shh gene therapy and endothelial BM-derived pro-angiogenic cell mobilization by a CXCR4 antagonist, AMD3100 (AMD), could exert synergistic effects and would be superior to either single strategy for the treatment of MI.

**Methods and Results** — In vitro, human Shh plasmid activates the Hedgehog pathway and induces transcription and secretion of VEGF and SDF-1 from fibroblasts. Shh conditioned medium from these fibroblasts promotes capillary morphogenesis, proliferation and migration. In vivo, MI was induced in WT and GFP-bone marrow (BM) transplanted mice randomly assigned in 4 treatment groups: control; AMD (single dose, 5mg/kg s.c.); Shh (intramyocardial administration of 100µg Shh plasmid DNA at time of MI surgery); AMD+Shh group. Left ventricular ejection fraction (LVEF) was evaluated by echo up to 4 weeks post MI. AMD+Shh group exhibited the best LV function (control: 28+/-3%; AMD: 36+/-2%; Shh: 40+/-3%; AMD+Shh: 48+/-2%; P<0.05 AMD+Shh vs. other groups). Furthermore, combination of AMD with sub-therapeutic dose of Shh resulted in a significant improvement of cardiac function recovery compared to monotherapy, highlighting its synergistic effect (P<0.05). Elastic staining and immunohistological analyses demonstrated reduced infarct size and increased capillary density in the AMD+Shh group (both P < 0.05). Combination therapy was also associated with significant increase in number of GFP-BS lectin BM-derived cells incorporated into the ischemic area (P<0.05).

We then explored the certain potential mechanisms of the favourable effects of combination therapy. MMP-9 mRNA expression was increased in ischemic myocardium in the AMD+Shh (10-fold versus control). The positive effect on EF of combined treatment was attenuated in MMP-9KO mice (WT mice 49+/-2% vs. KO mice 36+/-4%; P<0.05), suggesting that MMP-9 might be a key modulator of the combination therapy.

**Conclusion** — Pharmacological enhancement of Shh gene therapy via BM-cell mobilization by a CXCR4 antagonist is mediated via an MMP-9-dependent pathway. The combination may offer advantages in safety and feasibility by allowing lower dose gene transfer while improving outcome post-MI

N010

**PRÉVENTION DU REJET VASCULAIRE PAR MOBILISATION DE CELLULES PROGÉNITRICES ENDOTHÉLIALES**N. ROUX <sup>1</sup>, C. FREQUIN-BOUILLAND <sup>1</sup>, E. BRAKENHEIM <sup>1</sup>, F. LALLEMAND <sup>1</sup>, C. THUILLER <sup>1</sup>, D. PLISSONNIER <sup>1</sup><sup>1</sup> *Unité Inserm U644, Rouen, France*

Le rejet vasculaire est à l'origine de la perte des organes transplantés après un an. Il affecte les artères de l'organe, par une agression de la paroi en particulier de l'intima et de la media, en réponse de laquelle se développe une prolifération intinale entraînant une ischémie parenchymateuse. Notre hypothèse est qu'une cicatrisation endothéliale autologue précoce par mobilisation de cellules souches progénitrices peut prévenir la prolifération intinale.

**Méthodologie** — Le modèle expérimental est une allogreffe aortique chez la souris (Balb/c donneuse — C57bl/6J receveuse). Des molécules connues comme mobilisatrices (Fucane à 10mg/kg/j, Simvastatine à 5mg/kg/j et AMD3100 à 20µg/kg/j), ont été administrées en intra-péritonéal pendant 21 jours. Pour chaque protocole thérapeutique, les groupes étaient allogreffes traitées (n = 10), allogreffes non traitées (n = 10), isogreffes traitées (n = 5) et isogreffes non traitées (n = 10).

Les animaux étaient sacrifiés à 21 jours. Le greffon était étudié en morphologie semi-quantitative et en immunomarquage (CD31).

Pour chaque traitement, la mobilisation cellulaire a été étudiée en cytométrie de flux (FACS) (CD133/CD34, CD133/Ckit, CD34/VEGF-R2 et Ckit/VEGF-R2) à J8.

**Résultats** — Comparativement aux allogreffes non traitées, les trois traitements entraînaient une diminution de la prolifération intinale (84,2% +/- 22,2% versus allogreffes traitées par Fucane = 32,7% +/- 39,8%, p < 0,01, allogreffes traitées par Simvastatine = 19,7% +/- 29,2%, p < 0,01 et allogreffes traitées par AMD3100 = 34,5% +/- 36,5%, p < 0,01). L'immunomarquage CD31 objectivait la présence d'un endothélium continu dans les groupes Fucane et AMD3100. Les cellules CD133/Ckit étaient mobilisées par Fucane (p < 0.05 versus groupe non traité), Simvastatine (p < 0.01 versus groupe non traité) et AMD3100 (p < 0.001 versus groupe non traité).

**Conclusion** — La mobilisation de cellules souches permet de prévenir la prolifération intinale dans le rejet vasculaire par réendothélialisation précoce, peut-être par la sous-population CD133/Ckit particulièrement caractéristique de cellules endothéliales progénitrices.